

PATENT COOPERATION TREATY

26 MAY 2005

33001
From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

Date of mailing (day/month/year)

17 December 2003 (17.12.03)

Applicant's or agent's file reference

03op124p

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/KR03/02437

International filing date (day/month/year)

12 November 2003 (12.11.03)

International publication date (day/month/year)

Not yet published

Priority date (day/month/year)

13 November 2002 (13.11.02)

Applicant

AMOREPACIFIC CORPORATION et al

- The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
- An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority datePriority application No.Country or regional Office
or PCT receiving OfficeDate of receipt
of priority document

13 Nove 2002 (13.11.02)

10-2002-0070317

KR

12 Dece 2003 (12.12.03)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 338-70-90

Authorized officer

Eric VUAGNIAUX

Telephone No. (41-22) 338 9768

REC'D 12 DEC 2003

WIPO PCT

PCT/KR 2003/02437

RO/KR 12.11.2003



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2002-0070317
Application Number

출원년월일 : 2002년 11월 13일
Date of Application NOV 13, 2002

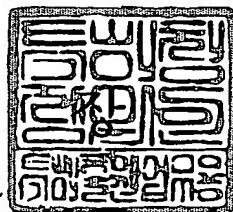
PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

출원인 : 주식회사 태평양
Applicant(s) AMOREPACIFIC CORPORATION

2003 년 11 월 12 일



특허청
COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0001
【제출일자】	2002.11.13
【국제특허분류】	A61K
【발명의 명칭】	지속적 약물방출이 가능한 고분자 미립구 및 그 제조방법
【발명의 영문명칭】	Polymeric microparticulates for sustained release of drug and their preparation methods
【출원인】	
【명칭】	주식회사 태평양
【출원인코드】	1-1998-003983-5
【대리인】	
【성명】	서종완
【대리인코드】	9-1998-000283-8
【포괄위임등록번호】	2000-047077-9
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이혁
【성명의 영문표기】	LEE, Hyek
【주민등록번호】	670520-1025921
【우편번호】	463-779
【주소】	경기도 성남시 분당구 수내동 푸른마을 벽산아파트 101동 1101호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박함용
【성명의 영문표기】	PARK, Ham. Yong
【주민등록번호】	670714-1046119
【우편번호】	135-782
【주소】	서울특별시 강남구 수서동 736 신동아아파트 706동 505호
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 양정화
【성명의 영문표기】 YANG, Jeong Hwa
【주민등록번호】 720717-2120025
【우편번호】 463-010
【주소】 경기도 성남시 분당구 정자동 상록마을 우성아파트 308동 1301호
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 김정주
【성명의 영문표기】 KIM, Jung Ju
【주민등록번호】 630103-1462727
【우편번호】 449-759
【주소】 경기도 용인시 수지읍 풍덕천 1동 703 동보아파트 102동 601호
【국적】 KR
【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대리인
서종완 (인)

【수수료】

【기본출원료】	20	면	29,000 원
【가산출원료】	17	면	17,000 원
【우선권주장료】	0	건	0 원
【심사청구료】	0	항	0 원
【합계】	46,000 원		
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통		

【요약서】**【요약】**

본 발명은 지속적 약물방출이 가능한 고분자 미립구 및 그 제조방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 수용성 고분자의 미세응집현상을 이용한 고분자 미립구의 제조방법에 의하면 약물의 봉입량이 향상될 뿐 아니라, 약물의 초기 과다방출이 최소한으로 억제될 수 있어 궁극적으로 지속적이고 장기적으로 약물이 방출되는 고분자 미립구를 얻을 수 있다.

【대표도】

도 2

【색인어】

지속적 약물방출, 미세응집현상, 생분해성 미립구

【명세서】**【발명의 명칭】**

지속적 약물방출이 가능한 고분자 미립구 및 그 제조방법{Polymeric microparticulates for sustained release of drug and their preparation methods}

【도면의 간단한 설명】

도 1a는 비교예 1에 따라 제조된 고분자 미립구의 단면에 대한 전자현미경 사진이다.

도 1b는 실시예 1-3에 따라 제조된 고분자 미립구의 단면에 대한 전자현미경 사진이다.

도 2는 폴리락트산과 소수성 계면활성제를 포함하는 유기용매 중 디클로로메탄과 아세톤의 혼합비율에 따른 약물의 방출속도를 나타낸 것이다 (비교예 1 : △, 실시예 1 : ●, 실시예 1-1 : ▲, 실시예 1-2 : ◆, 실시예 1-3 : ■).

도 3은 폴리락트산-폴리글리콜산 공중합체와 소수성 계면활성제를 포함하는 유기용매 중 디클로로메탄과 아세톤의 혼합비율에 따른 약물의 방출속도를 나타낸 것이다 (비교예 2 : ▲, 실시예 2 : ●).

도 4는 폴리락트산-폴리글리콜산 공중합체와 폴리에틸렌글리콜의 혼합비율에 따른 약물의 방출속도를 나타낸 것이다 (실시예 2 : ◆, 실시예 2-1 : ■, 실시예 2-2 : ▲, 실시예 2-3 : ●).

도 5는 수용성 고분자로서 히아루론산나트륨을 키토산으로 변경하였을 경우 유기용매 중 디클로로메탄과 아세톤의 혼합비율에 따른 약물의 방출속도를 나타낸 것이다 (비교예 3 : ●, 실시예 3 : ▲, 실시예 3-1 : ■).

도 6은 점도를 가지는 내부수상의 변경에 따른 약물의 방출속도를 나타낸 것이다 (실시예 2 : ■, 실시예 3 : ▲, 비교예 4 : ●).

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<8> 본 발명은 지속적 약물방출이 가능한 고분자 미립구 및 그 제조방법에 관한 것이다.

<9> 고분자를 이용한 약물 전달용 미립구의 제조방법으로는 주로 용매증발법 (참조: N. Wakiyama et al., Chem. Pharm. Bull., 30(7), 2621-2628, 1982), 용매추출법 (참조: J. M. Ruiz et al., Int. J. Pharm., 49, 69-77, 1989), 상분리법 (참조: N. Nihant et al., J. Controlled Release, 35, 117-125, 1995), 코아세르베이션법 (참조: J. C. Leroux et al., Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., Controlled Release Society, Inc., 21 #1118, 1994), 염석법 (참조: B. Gander et al., J. Microencapsulation, 12(1), 83-97, 1995) 및 분무건조법 (참조: R. Arshady et al., Polym. Eng. Sci., 30(15), 915-924, 1990) 등이 있다. 입자의 크기, 약물의 봉입율, 약물의 방출특성 등 미립구의 최종특성은 제조방법에 의하여 큰 영향을 받으므로, 고분자와 약물의 성질 뿐 아니라 제조된 미립구가 갖추어야 할 물성을 고려하여 적절한 제조방법이 선택되어져야 한다.

<10> 그 중 다중에멀젼을 이용한 용매증발방법 및 용매추출방법이 가장 많이 연구되어 왔으며, 이는 폴리에스테르계 고분자를 이용한 미립구를 제조하기 위한 일반적인 방법으로 알려져 있다. 이러한 다중 에멀젼 방법을 이용한 고분자 미립구의 제조방법은 비교적 손쉽게 미립구를 얻을

수 있다는 장점이 있다. 그러나, 수용성 약물을 사용하는 경우에는 미립구의 제조과정 중 외부 연속상으로 약물이 확산되어 나오므로 약물의 봉입 효율이 매우 나빠지고, 또한 이로 인하여 약물이 미립구의 내부에 봉입되기보다는 미립구의 표면에 다량 분포할 확률이 높아지게 되어 약물의 초기 과다방출이 일어난다는 문제점이 있었다.

<11> 한편, 한국특허 공개 특2002-0005215에서는 디클로로메탄과 에틸아세테이트의 혼합용매 내에서 단백질 약물의 가역적인 미세 응집현상을 이용하여 폴리에스테르계 고분자 미립구 내부에 단백질 약물을 봉입시키는 방법이 개시되어 있다. 상기의 방법에 의하는 경우 단백질 약물의 지속적 방출이 유도되고, 상기 약물의 초기 과다방출이 억제되는 결과를 얻었다. 그러나, 이는 단백질 약물의 고유물성을 이용한 특별한 경우에 해당될 뿐, 단백질 약물을 제외한 다른 약물에 대해서는 약물의 봉입 효율 저하 및 약물의 초기 과다방출이라는 문제점이 여전히 남아 있었다.

<12> 또한, 한국특허 공개 특1997-069033에서는 다중 에멀젼 방법을 이용한 미립구의 제조 과정에 있어서, 물과의 혼화성을 가지면서도 고분자의 불용매 역할을 하는 에틸아세테이트를 외부 연속상에 미리 첨가하여 단시간 내에 고분자 미립구를 고형화시키는 방법이 개시되어 있다. 상기의 제조방법에 의하면 미립구의 제조시간이 단축되어 약물의 봉입효율이 높아지게 된다. 그러나, 상기 제조방법은 물에 대한 약물의 용해도가 500 mg/ml 이상인 저분자량의 약물의 경우에만 적용할 수 있으며, 약물의 봉입량을 상승시키는 결과만 보였을 뿐 약물방출 초기에 60% 이상이 과다 방출되는 문제점을 드러냈다. 또한, 염의 형태로 되어 있거나 그 밖에 친수성의 성질을 가지고 있는 약물이라 하더라도 물에 대한 약물의 용해도가 10 mg/ml 내외로 매우 낮은 경우에는 W/O 1차 에멀젼 용액의 제조시 내부 수상의 부피가 제한되어 있으므로 사용되는 약물의 양 또한 제한적일 수 밖에 없다. 따라서, 제조된 미립구에서 방출되는 약물의 양이 치료범

위에도 미치지 못할 만큼 미량일 가능성이 높다. 만약 내부수상에 포화농도 이상의 약물을 사용할 경우에는 다중 에멀젼 방법을 통한 고분자 미립구의 제조 자체가 불가능하게 된다.

<13> 미국특허 제6,419,961호, 제5,585,460호 및 제4,652,441호에서는, 다중 에멀젼 방법을 이용하여 류프로레린 아세테이트 (leuprorelin acetate) 등의 펩타이드 (peptide)계 약물을 함유하는 폴리락트산-폴리글리콜산 공중합체 미립구를 제조하는 방법이 개시되어 있다. 특히 미국특허 제4,652,441호의 경우 내부 수상에 젤라틴 (gelatin), 알부민 (albumin), 펙틴 (pectin), 아gar (agar) 등의 수용성 고분자들을 약물과 함께 도입함으로써 내부수상의 점도가 높아지고, 결과적으로 젤라틴과 폴리락트산-폴리글리콜산 공중합체의 이중 봉입 (double encapsulation)이 유도되어 장기 서방형 주사제를 제조할 수 있었다. 그러나, 내부수상의 점도를 상승시키기 위해 젤라틴을 사용하는 경우, 1차 에멀젼 용액의 제조시 약물이 용액 내에서 균일하게 분포하도록 하기 위해 80°C의 고온으로 가열하여야 하며, 상기 1차 에멀젼 용액을 외부 연속상에 재분산시킬 때 20°C 내지 30°C까지 냉각시켜야 하기 때문에 미립구의 제조공정이 복잡하다는 문제점이 있었다. 또한 상기의 제조방법은 열에 대하여 안정성을 가지고 있는 약물의 제조에만 이용할 수 있다는 한계점을 가지고 있었다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<14> 이에, 본 발명자들은 종래의 다중 에멀젼 공정을 이용한 고분자 미립구의 제조시 발생하는 낮은 약물 봉입율 및 과다한 초기 방출이라는 문제점을 해결하고자 하였다.

<15> 본 발명의 목적은 지속적 약물방출이 가능한 고분자 미립구 및 그의 제조방법을 제공하는데 있다.

【발명의 구성 및 작용】

<16> 본 발명은 지속적 약물방출이 가능한 고분자 미립구 및 그 제조방법에 관한 것이다.

<17> 본 발명의 고분자 미립구는 (1) 생분해성 고분자 및 소수성 계면활성제를 포함하는 1차 유기 용매 내에 2차 유기용매를 가하여 고분자 용액을 제조하는 단계; (2) 수용성 고분자 및 친수성 계면활성제를 포함하는 수용액에 약물을 용해, 분산시킨 후, 이를 (1)단계에서 제조된 고분자 용액에 가하여 1차 에멀젼 용액 (water-in-oil (W/O))을 제조하는 단계로서, 상기 단계에서 1차 에멀젼 용액의 내부수상이 탈수되어 수용성 고분자의 미세옹집입자가 형성되고, 상기 미세 옹집입자내로 약물이 봉입되는 단계; 및 (3) 외부 연속상 (continuous phase)에 상기 1차 에멀젼 용액을 분산시켜 고분자 미립구를 고형화시키는 단계를 포함하는 제조방법에 의하여 제조된다. 한편, 상기 고분자 미립구는 상기 (3) 단계에 통상의 여과 및 세척과정을 더 추가하여 얻어질 수 있다.

<18> 이하, 상기의 고분자 미립구를 제조하는 방법을 단계별로 나누어 구체적으로 설명하고자 한다.

<19> 1단계: 고분자 용액의 제조

<20> 먼저, 생분해성 고분자 및 소수성 계면활성제를 포함하는 1차 유기용매내에 2차 유기용매를 가하여 고분자 용액을 제조한다.

<21> 상기 생분해성 고분자로서 폴리에스테르계 고분자를 사용할 수 있으며, 바람직하게는 폴리락트산 (Poly(lactic acid) (PLA)), 폴리글리콜산 (Poly(glycolic acid) (PGA)), 폴리락트산-폴리글리콜산의 공중합체 (Poly(lactic acid-co-glycolic acid) (PLGA)) 및 폴리카프로락톤 (Polycaprolactone (PCL))으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 성분을 사용할 수 있다. 상기 고분자는 체내에 투여되었을 때 생체내의 정상대사 과정인 시트르산회로 (citric acid cycle)를 통해 인체에 무해한 물과 이산화탄소로 분해되기 때문에 생체적합성 및 생체 분해성이 뛰어난 고분자로 알려져 있다 (참조: S. J. Holland et al., J. Controlled Release, 4, 155-180, 1986). 상기 생분해성 고분자는 특별히 제한되는 것은 아니지만 평균 분자량이 5,000 내지 210,000 범위인 것을 사용하는 것이 바람직하다. 한편, 상기 생분해성 고분자는 고분자 용액중의 유기용매에 대한 농도가 10 내지 60%(w/v)가 되도록 첨가될 수 있다.

<22> 또한 본 발명에서는 상기 (1) 단계에서 결정성 고분자를 더 첨가하여 고분자 미립구를 제조할 수 있다. 상기 결정성 고분자는 약물의 방출조절제로서의 역할을 한다. 상기 결정성 고분자로서 주사가능한 생체적합성 재료라면 특별한 제한없이 사용될 수 있으나, 바람직하게는 폴리에틸렌글리콜 (Poly(ethylene glycol) (PEG)) 또는 폴리락트산, 더욱 바람직하게는 폴리에틸렌글리콜이 사용될 수 있다. 저분자량의 PEG는 실제 임상에서 관절 내 주사용 제제에 이용되는 생체적합성 고분자로 알려져 있다. 바람직한 PEG의 분자량은 200 내지 5,000이다. PEG의 분자량이 200 미만인 경우에는 결정을 형성하지 않기 때문에 약물의 방출조절제로서 작용하지 않으며, 분자량이 5000을 초과하는 경우에는 신장을 통하여 체외로의 배설이 불가능하다. (참조: K. K. Huang, T. W. Chang and T. W. Tzeng, Int. J. Pharm., 156, 9-15, 1997). 상기 결정성 고분자와 생분해성 고분자의 질량비는 0.1:99.9 내지 20:80이며, 바람직하게는 1:99 내지 10:90이다.

<23> 특히, 상기 생분해성 고분자가 폴리락트산과 폴리글리콜산의 몰분율이 50:50인 저분자량 공중합체인 경우 고무상 (rubbery state) 상태인 무정형 (amorphous) 고분자이기 때문에, 미립구에 봉입된 약물의 주된 방출 경로인 공극 (pore) 및 수로 (water channel)의 형성이 저해되므로, 약물의 전체적인 방출속도가 지나치게 느린 경향을 보인다. 이러한 경우에 폴리에틸렌글리콜을 약물의 방출조절제로서 무정형 고분자와 물리적으로 혼합하여 사용하는 경우 고무상의 무정형 고분자 미립구 내부에 결정영역을 형성하여, 공극과 수로 형성을 원활하게 하여, 약물 방출속도를 원하는대로 조절할 수 있는 효과를 기대할 수 있다.

<24> 상기 소수성 계면활성제로는 지방산계 (fatty acid), 올레핀계 (olefin), 알킬카본계 (alkyl carbon), 실리콘계 (silicon), 설페이트 에스테르계 (sulfate ester), 지방산알코올 설페이트계 (fatty alcohol sulfate), 설페이티드 패트 및 오일계 (sulfated fat & oil), 설포닉산염계 (sulfonic acid salt), 알리파틱 설포네이트계 (aliphatic sulfonate), 알킬아릴 설포네이트계 (alkylaryl sulfonate), 리그민설포네이트계, 포스포릭산 에스테르계 (phosphoric acid ester), 폴리옥시에틸렌계 (polyoxyethylene), 폴리글리세롤계 (polyglycerol), 폴리올계 (polyol), 이미다졸린계 (imidazoline), 알카놀아민계 (alkanolamine), 헤타민계 (hetamine), 설포메타민계 (sulfomethamine), 포스파타이드계 (phosphatid) 및 소르비탄 지방산 에스테르계 (sorbitan fatty acid ester)로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 성분을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 소르비탄 지방산 에스테르계, 더욱 바람직하게는 소르비탄 트리올레이트 (sorbitan trioleate)를 사용할 수 있다. 상기 소수성 계면활성제는 고분자용액중의 유기용매에 대한 농도가 0.1 내지 30%(v/v), 바람직하게는 5 내지 20%(v/v)가 되도록 첨가될 수 있다.

<25> 상기 1차 유기용매는 생분해성 고분자 및 소수성 계면활성제와의 혼화성이 요구되며, 물과는 상분리가 일어날 것이 요구된다. 상기 1차 유기용매는 상기의 요건을 만족하는 경우라면 특별

히 제한되지는 않지만, 예를들어 디클로로메탄, 클로로포름, 사이클로헥산 및 에틸아세테이트 중에서 선택된 하나 이상의 성분을 사용할 수 있다.

<26> 상기 2차 유기용매는 1차 유기용매 및 그에 포함된 생분해성 고분자와 소수성 계면활성제와 혼화성이 있어야 하며 또한 물과도 혼화성이 있을것이 요구된다. 2차 유기용매는 상기의 요건을 만족하는 경우라면 특별히 제한되지는 않지만, 예를들어, 아세톤, 아세토니트릴, 디메틸설폐사이드, 테트라하이드로퓨란 및 디옥산 중에서 선택된 하나 이상의 성분을 사용할 수 있다.

<27> 본 발명에 있어서, 생분해성 고분자 및 소수성 계면활성제를 포함하는 1차 유기용매와 물과의 혼화성을 만족시키는 2차 유기용매가 혼합된 혼합용매를 사용하는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 디클로로메탄과 아세톤의 혼합용매를 사용하는 것이 바람직하다. 상기 1차 유기용매와 2차 유기용매의 부피비는 95 : 5 내지 50 : 50, 바람직하게는 75 : 25 내지 55 : 45이다. 1차 유기용매와 2차 유기용매의 전체부피는 외부연속상 (폴리비닐알코올 수용액)의 부피에 대하여 1/500 내지 1/100, 바람직하게는 1/400 내지 1/200이다.

<28> 2단계: 1차 에멀젼 용액의 제조 및 수용성 고분자의 미세 응집 입자 형성에 의한 약물의 1차 봉입

<29> 수용성 고분자와 친수성 계면활성제를 포함하는 수용액 상에 포화농도 이상의 약물을 용해, 분산시킨 후, 이를 1단계에서 제조된 고분자 용액에 가하고, 격렬하게 교반시켜 1차 에멀젼 용액 (water-in-oil (W/O))을 제조한다. 이때, 생분해성 고분자 및 소수성 계면활성제를 포함하는 혼합용매 중의 2차 유기용매와 물과의 혼화성으로 인하여 내부수상이 급속하게 탈수되는 현상이 일어난다. 이로 인하여 수용성 고분자의 용해도가 급격히 떨어져 미세한 크기의 입자가

형성되며, 이러한 과정중에서 약물이 상기 미세입자 내로 1차 봉입된다. 따라서 이 단계에서 제조되어지는 1차 에멀젼 용액의 내부수상은 약물이 봉입된 수용성 고분자의 미세입자가 분산된 형태로서 존재하게 된다.

<30> 본 발명에서 사용된 수용성 고분자는 생체적합성이 우수한 물질로서, 인체에 무해하고 물에 용해되면 수용액상에서 점성을 가지는 고분자이다. 상기 수용성 고분자는 셀룰로오스 (cellulose), 헤미셀룰로오스 (hemicellulose), 펙틴 (pectin), 리그닌 (lignin), 저장 탄수화물인 전분, 키토산 (chitosan), 잔탄검 (xanthan gum), 알긴산 (alginic acid), 폴루란 (pullulan), 커드란 (curdlan), 덱스트란 (dextran), 리벤 (levan), 히아루론산 (hyaluronic acid), 글루칸 (glucan), 콜라겐 (collagen) 및 이들 각각의 염 중에서 선택된 하나 이상의 성분을 사용할 수 있으며, 이 중 히아루론산 또는 그 염을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 수용성 고분자의 탈수전 수용액상에서의 점도는 300 내지 50,000 cp (centi-poise), 바람직하게는 500 내지 30,000 cp이다.

<31> 또한, 본 발명에서는 상기 (2) 단계에서 수용성 고분자의 물에 대한 용해도를 높이기 위해 다른 성분을 더 첨가하여 고분자 미립구를 제조할 수 있다. 상기 수용성 고분자가 키토산인 경우에는 포름산, 시트르산, 아세트산, 락트산 등의 유기산 및 염산 등의 무기산 수용액에 키토산을 용해시켜 반응하는 것이 바람직하다. 이때, 물에 대한 산의 농도는 0.5 내지 3.0% (w/v)인 것이 바람직하다.

<32> 상기 친수성 계면활성제는 포화농도 이상의 약물입자를 균일하게 분산시키기 위하여 사용된다. 상기 친수성 계면활성제의 예로서는 우혈청알부민 (BSA)이나 카보폴 (carbopol)과 같은 단백질 계면활성제, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 블록 공중합체 (polyoxyethylene-polyoxypropylene block copolymer) 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산에

스테르계 (polyoxyethylene sorbitan fatty ester, Tween 계열)로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 성분을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르 계열의 계면활성제를 사용하며, 더욱 바람직하게는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트 (polypxyethylene sorbitan monooleate, 상품명: Tween 80)를 사용할 수 있다. 상기 친수성 계면활성제는 물에 대한 농도가 0.1 내지 30%(w/w), 바람직하게는 1 내지 20%(w/w)가 되도록 첨가될 수 있다.

<33> 본 발명에서 사용가능한 약물은 특별히 제한되지 않는다. 예를들어, 비스포스포네이트 (bisphosphonate)계 약물로서는 에티드로네이트 (etidronate), 클로드로네이트 (clodronate), 패미드로네이트 (pamidronate), 알렌드로네이트 (alendronate), 이반드로네이트 (ibandronate), 리시드로네이트 (risedronate), 졸렌드로네이트 (zolendronate), 티루드로네이트 (tiludronate), YH 529, 이카드로네이트 (icadronate), 올파드로네이트 (olpadronate), 네리드로네이트 (neridronate), EB-1053 등 및 그들의 염의 형태로 된 것을 사용할 수 있다. 상기 약물은 물에 대한 용해도가 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 내지 1000 mg/ml , 바람직하게는 10 mg/ml 내지 500 mg/ml 인 것을 사용하는 것이 좋다.

<34> 한편 내부 수상과 유상의 부피비는 1:5 내지 1:30, 바람직하게는 1: 10 내지 1:20이다.

<35> 3단계: 외부 연속상 (continuous phase)에 1차 에멀젼 용액을 분산시키 고형화시킨 후 고분자 미립구를 제조하는 단계

<36> 1차 에멀젼용액을 분산시키기 위한 외부연속상으로서는 소디움 도데실 설페이트 (sodium dodecyl sulphate, SDS), 세틸트리메틸 암모니움 브로마이드 (cetyltrimethyl ammonium

bromide, CTAB), 메틸 셀룰로오스 (methyl cellulose, MC), 젤라틴 (gelatin), 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트 (polyoxyethylene sorbitan monooleate) 또는 폴리비닐알코올 (polyvinyl alcohol, PVA) 수용액을 사용할 수 있고, 바람직하게는 폴리비닐알코올 수용액을 사용할 수 있다. 이 때, 폴리비닐알콜의 농도는 0.1 내지 5%(w/v), 바람직하게는 0.3 내지 2%(w/v)이다. 이 때, 폴리비닐알코올의 분자량은 10,000 내지 100,000, 바람직하게는 13,000 내지 23,000이며, 가수분해도는 75 내지 95%, 바람직하게는 83 내지 89%이다. 또한, 상기 연속상에는 다중에멀젼 용액의 제조시에 통상적으로 첨가되는 다른 성분, 예를들어 에틸아세테이트 등이 첨가될 수도 있다. 이때 에틸아세테이트는 PVA 수용액에 대하여 1 내지 20%(v/v), 바람직하게는 5 내지 10%(v/v) 첨가될 수 있다.

<37> 본 발명에 의하여 제조된 고분자 미립구는 평균 입자경이 0.1 내지 200 μm , 바람직하게는 10 내지 100 μm 이며, 주사바늘을 통하여 정맥, 피하, 근육 등의 경로로 투여가 가능한 특징을 가지고 있다. 또한, 상기 미립구는 내부에 수많은 공극 (pore) 및 수로 (water channel)가 형성되어 있는 원형의 입자로로서, 같은 질량의 필름 (film) 또는 원통형 (cylinder) 제제에 비하여 표면적이 크기 때문에 약물의 원활한 방출이 가능하다는 특징을 가지고 있다.

<38> 본 발명에 의하여 제조된 고분자 미립구 내부의 공극에는 수용성 고분자 미세 응집입자들이 분포되어 있고, 이러한 수용성 고분자 미세응집 입자 내에 약물이 봉입되어 있어, 결과적으로 약물이 수용성 고분자와 생분해성 고분자에 이종으로 봉입되는 효과를 가진다. 이와같은 이종 봉입에 의하여 약물이 미립구의 제조과정 중에서 외부연속상으로 손실되는 것을 최소화 할 수 있으며, 약물의 초기 과다방출 또한 최소화 할 수 있는 특징을 가지게 된다.

<39> 본 발명에 의해 제조된 미립구는 약물의 서방성 방출을 위해 주사 가능한 제제나 이식정으로 사용될 수 있으며, 더욱 구체적인 주사방법으로는 피하주사, 근육주사 등을 들 수 있다. 또한 그의 적용 가능한 제형의 예를 들면, 주사액 및 용시조제형 주사액 제조용 분말 등의 주사용 제제, 이식정 등의 임플란트 제제 등이 있다. 따라서 본 발명의 조성물은 실제 적용하기 위하여 상기의 제형으로 제제화할 경우 각각 요구되는 부형제, 안정화제, pH 조절제, 등장화제 등을 더 포함할 수 있다.

<40> 이하 본 발명의 바람직한 실시예, 실험예 및 제제예를 제시하고자 한다. 그러나, 다음의 구체 예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것이지 본 발명이 이들 구체예에 한정되는 것은 아니다.

<41> 실시예 1

<42> 내부수상은 물에 대한 농도가 0.75%(w/v)인 히아루론산나트륨 및 20%(w/v)인 폴리에틸렌글리콜 소르비탄 모노올레이트가 용해되어 있는 수용액 500 μ l에 소디움알렌드로네이트 100 mg을 분산시켜 얻었다. 유상인 고분자용액은 디클로로페탄과 아세톤을 9 대 1의 부피비로 섞은 혼합용매 100 중량부에 폴리락트산 (분자량 100,000)을 10 중량부 및 소르비탄 트리올레이트 5 중량부를 용해시켜 얻었다. 외부연속상은 폴리비닐알코올 0.5 중량부를 증류수 100 중량부에 용해시킨 수용액 99 중량부에 대해 에틸아세테이트 1 중량부를 용해시켜 얻었다.

<43> 내부수상과 유상을 1 대 10의 부피비로 하여 격렬히 교반하여 W/O형 에멀젼을 먼저 제조하였다. 외부 연속상을 균질기로 5,000 rpm에서 균일하게 분산시키면서 앞서 제조한 W/O형 1차에

멀젼용액을 외부 연속상에 대해 1 대 200의 부피비로 천천히 가하여 5분간 균질기로 분산시켜 W/O/W형 다중 에멀젼 용액을 제조하였다. 이후 약 30분간 서서히 교반한 후 여과하여 유기용매를 제거하고, 진공 오븐에 넣어 24시간 동안 건조시켜 미립구를 얻었다.

<44> 실시예 1-1

<45> 유상을 이루는 유기용매로서 디클로로메탄과 아세톤을 8 대 2의 비율로 섞은 혼합용매를 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 미립구를 제조하였다.

<46> 실시예 1-2

<47> 유상을 이루는 유기용매로서 디클로로메탄과 아세톤을 7 대 3의 비율로 섞은 혼합용매를 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 미립구를 제조하였다.

<48> 실시예 1-3

<49> 유상을 이루는 유기용매로서 디클로로메탄과 아세톤을 6 대 4의 비율로 섞은 혼합용매를 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 미립구를 제조하였다.

<50> 비교예 1

<51> 유상을 이루는 유기용매로서 디클로로메탄을 단독으로 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 미립구를 제조하였다.

<52> 실시예 2

<53> 내부수상은 물에 대한 농도가 0.75%(w/v)인 히아루론산나트륨 및 20%(w/v)인 폴리에틸렌글리콜 소르비탄 모노올레이트가 용해되어 있는 수용액 500 μ l에 소디움알렌드로네이트 100 mg을 분산시켜 얻었다. 유상인 고분자용액은 디클로로메탄과 아세톤을 7 대 3의 비율로 섞은 혼합용매 100 중량부에 폴리락트산-폴리글리콜산의 공중합체 (락트산:글리콜산의 몰비 = 50:50, 분자량 54,000)를 30 중량부 및 소르비탄 트리올레이트 5 중량부를 용해시켜 얻었다. 외부연속수상은 폴리비닐알코올 0.5 중량부를 증류수 100 중량부에 용해시킨 수용액 99 중량부에 대해 에틸아세테이트 1 중량부를 용해시켜 얻었다.

<54> 내부수상과 유상을 1 대 10의 부피비로 하여 격렬히 교반하여 W/O형 에멀젼을 먼저 제조하였다. 외부 연속상을 균질기로 5,000 rpm에서 균일하게 분산시키면서 앞서 제조한 W/O형 1차 에멀젼용액을 외부 연속상에 대해 1 대 200의 부피비로 천천히 가하여 5분간 균질기로 분산시켜 W/O/W형 다중 에멀젼 용액을 제조하였다. 이후 약 30분간 서서히 교반한 후 여과하여 유기용매를 제거하고, 진공 오븐에 넣어 24시간 동안 건조시켜 미립구를 얻었다.

<55> 실시예 2-1

<56> 폴리락트산-폴리글리콜산의 공중합체 (락트산:글리콜산의 몰비 = 50:50, 분자량 54,000)를 30 중량부 대신에 리락트산-글리콜산의 공중합체 (락트산: 글리콜산의 몰비 = 50:50, 분자량 54,000)를 29.3 중량부, 폴리에틸렌글리콜 (분자량 3,350)을 0.7 중량부를 첨가한 것을 제외하고는 실시예 2와 동일한 방법으로 고분자 미립구를 제조하였다.

<57> 실시예 2-2

<58> 폴리락트산-폴리글리콜산의 공중합체 (락트산:글리콜산의 몰비 = 50:50, 분자량 54,000)를 30 중량부 대신에 리락트산-글리콜산의 공중합체 (락트산: 글리콜산의 몰비 = 50:50, 분자량 54,000)를 28.5 중량부, 폴리에틸렌글리콜 (분자량 3,350)을 1.5 중량부를 첨가한 것을 제외하고는 실시예 2와 동일한 방법으로 고분자 미립구를 제조하였다.

<59> 실시예 2-3

<60> 폴리락트산-폴리글리콜산의 공중합체 (락트산:글리콜산의 몰비 = 50:50, 분자량 54,000)를 30 중량부 대신에 리락트산-글리콜산의 공중합체 (락트산: 글리콜산의 몰비 = 50:50, 분자량 54,000)를 27.0 중량부, 폴리에틸렌글리콜 (분자량 3,350)을 3.0 중량부를 첨가한 것을 제외하고는 실시예 2와 동일한 방법으로 고분자 미립구를 제조하였다.

<61> 비교예 2

<62> 유상을 이루는 유기용매로서 디클로로메탄을 단독으로 사용한 것을 제외하고는 실시예 2와 동일한 방법으로 미립구를 제조하였다.

<63> 실시예 3

<64> 내부수상은 물에 대한 농도가 1.5%(w/v)인 락트산, 0.75%인 키토산, 10% 인 폴리에틸렌글리콜 소르비탄 모노올레이트가 용해되어 있는 수용액 500 μ l에 소디움알렌드로네이트 100 mg을 분산시켜 얻었다. 유상인 고분자용액은 디클로로메탄과 아세톤을 8 대 2의 비율로 섞은 혼합용매

100 중량부에 폴리락트산-폴리글리콜산의 공중합체 (락트산:글리콜산의 몰비 = 50:50, 분자량 54,000)를 30 중량부 및 소르비탄 트리올레이트 5 중량부를 용해시켜 얻었다. 외부연속상은 폴리비닐알코올 0.5 중량부를 종류수 100 중량부에 용해시킨 수용액 99 중량부에 대해 에틸아세테이트 1 중량부를 용해시켜 얻었다.

<65> 내부수상과 유상을 1 대 10의 부피비로 하여 격렬히 교반하여 W/O형 에멀젼을 먼저 제조하였다. 외부 연속상을 균질기로 5,000 rpm에서 균일하게 분산시키면서 앞서 제조한 W/O형 1차 에멀젼용액을 외부 연속상에 대해 1 대 200의 부피비로 천천히 가하여 5분간 균질기로 분산시켜 W/O/W형 다중 에멀젼 용액을 제조하였다. 이후 약 30분간 서서히 교반한 후 여과하여 유기용매를 제거하고, 진공 오븐에 넣어 24시간 동안 건조시켜 미립구를 얻었다.

<66> 실시 예 3-1

<67> 유상을 이루는 유기용매로서 디클로로메탄과 아세톤을 6 대 4의 비율로 섞은 혼합용매를 사용한 것을 제외하고는 실시예 3과 동일한 방법으로 미립구를 제조하였다.

<68> 비교 예 3

<69> 유상을 이루는 유기용매로서 디클로로메탄을 단독으로 사용한 것을 제외하고는 실시예 3과 동일한 방법으로 미립구를 제조하였다.

<70> 비교 예 4

<71> 내부수상은 물에 대한 농도가 5%(w/v)인 젤라틴이 용해되어 있는 수용액 500 μ l에 소디움알렌드로네이트 200 mg을 분산시켜 얻었고, 80°C의 온도를 유지시켰다. 유상인 고분자용액은 디클로로메탄 100 중량부에 폴리락트산-폴리글리콜산 공중합체 (락트산:글리콜산의 몰비 = 50:50, 분자량 54,000)를 10 중량부를 용해시켜 얻었다. 외부연속상은 폴리비닐알코올 0.5 중량부를 중류수 100 중량부에 용해시킨 수용액 99 중량부에 대해 에틸아세테이트 1 중량부를 용해시켜 얻었다.

<72> 내부수상과 유상을 1 대 10의 부피비로 하여 격렬히 교반하며, 이 때의 온도는 25°C를 유지하여 W/O형 에멀젼을 먼저 제조하였다. 외부연속상을 균질기로 5,000 rpm에서 균일하게 분산시키면서 앞서 제조한 W/O형 1차 에멀젼용액을 외부 연속상에 대해 1 대 200의 용적비로 천천히 가하여 5분간 균질기로 분산시켜 W/O/W형 다중 에멀젼 용액을 제조하였다. 이 때의 외부연속상 온도는 25°C를 유지하여야 한다. 이후 약 30분간 서서히 교반한 후 여과하여 유기용매를 제거하고, 진공 오븐에 넣어 24시간 동안 건조시켜 미립구를 얻었다.

<73> 실험예 1. 약물의 봉입율 측정 실험

<74> 제조된 고분자 미립구 30 mg을 정확하게 평량하여 뚜껑이 달린 시험관에 넣고, 5 ml의 클로로포름에 충분히 용해시킨 후 20 ml의 중류수를 가하고 30분간 격렬히 교반하였다. 이후 이 용액을 5000 rpm으로 5분간 원심분리 하여주고, 일정량의 상층액을 취하여 고속액체크로마토그래피(HPLC)를 이용하여 약물의 농도를 측정하여 미립구내의 약물의 양을 계산하였으며, 다음의 수식을 통하여 고분자 미립구 내에 봉입되어 있는 약물의 봉입율을 계산하였다. 이 실험결과를 표 1에 나타내었다.

<75> 【수학식 1】 약물 봉입율 (Drug loading (%)) = (미립구 내의 약물의 양 / 취한 미립구의 양) ×100

<76> 【수학식 2】 약물의 봉입 효율 (Drug loading efficiency (%)) = (약물의 봉입율 / 이론적 약물 봉입율) ×100

<77> 이 때, 이론적 약물 봉입율 (theoretical drug loading (%))이란 미립구 제조시 소비된 약물의 총량 / (미립구 제조시 소비된 약물의 총량 + 미립구 제조시 소비된 부재료의 총량)을 뜻하는 것으로서, 미립구 제조시 소비된 약물이 미립구 제조과정 중 외부 연속상으로 손실되지 않고 100% 봉입되었다고 가정하였을 때, 나타내어지는 약물의 봉입율을 뜻하는 것이다. 또한 미립구 제조시 소비된 부재료란, 폴리에스테르계 고분자를 포함하여, 소수성 계면활성제 등 유상 (oil phase)을 구성하는 물질과, 수용성 고분자 및 친수성 계면활성제 등 내부수상 (internal water phase)을 구성하는 물질의 총량의 합을 말한다.

<78> 【표 1】

소다음알렌드로네이트의 봉입율 및 봉입 효율

시료	봉입율 (중량 %)	봉입 효율 (%)
실시예 1	3.80	36.23
실시예 1-1	5.48	52.22
실시예 1-2	5.92	56.44
실시예 1-3	6.17	58.88
실시예 2	3.76	73.52
실시예 2-1	3.22	62.34
실시예 2-2	2.69	51.92
실시예 2-3	1.59	30.67
비교예 1	2.25	21.87
비교예 2	1.87	18.18
실시예 3	4.09	77.02
실시예 3-1	3.99	75.19
비교예 3	3.46	65.11
비교예 4	4.51	38.88

<79> 상기의 표 1에서 확인할 수 있는 바와 같이, 혼합용매를 사용하여 히아루론산나트륨의 미세 응집 입자화 현상을 유도하지 않고 1차 유기용매인 디클로로메탄만을 사용하였을 경우 비교예 1 및 비교예 2의 경우에서처럼 약물의 봉입 효율이 20%정도에 불과하였다. 반면, 1차 유기용매와 2차 유기용매를 혼합하여 사용하여 히아루론산나트륨의 미세 응집 입자화 현상을 이용한 미립구에서는 약물의 봉입량이 현저히 증가하는 것을 확인하였다. 특히, 실시예 1-1, 실시예 1-2, 실시예 1-3의 결과로부터 혼합용매 내의 아세톤 함량이 증가할수록 약물의 봉입율이 증가함을 알 수 있었다. 이는 히아루론산나트륨 수용액의 탈수가 증가함에 따라 히아루론산나트륨 미세 응집 입자 자체가 약물을 함유하려는 물리적인 힘이 증가하므로 제조과정 중 약물의 손실이 최소화되기 때문인 것으로 해석되었다.

<80> 한편, 제조된 고분자 미립구의 단면을 시차주사 전자현미경으로 촬영한 것을 도 1a 및 도 1b에 나타내었다. 도 1a는 비교예 1에 의해 제조된 고분자 미립구 단면의 시차주사 전자현미경 사진이다. 미립구 내부에서 관찰되는 불연속상의 미세 공극(internal pore)은 약물의 봉입율

및 약물의 방출속도에 영향을 미치는데, 사진에서 보여지듯이 미립구의 제조과정 중 히아루론산나트륨의 미세 응집 입자가 형성되지 않았음을 알 수 있다. 그 결과 상당량의 약물이 미립구의 제조과정 중 외부수상으로 손실되어진 것으로 추측되었다. 도 1b는 실시예 1-3에 의해 제조된 고분자 미립구 단면의 시차주사 전자현미경 사진이다. 사진에서 볼 수 있듯이 고분자 미립구의 불연속상의 미세 공극내부가 히아루론산나트륨 미세 응집 입자들로 채워져 있음을 알 수 있다. 이로부터 약물이 히아루론산나트륨 응집 입자 내에 1차로 봉입되어 미립구의 제조과정 중에도 외부 수상으로의 약물 손실이 최소화 되었다는 것을 알 수 있었다. 이러한 현상은 비교 예 1, 비교예 2와 같이 미립구 제조과정 중 디클로로메탄 단독용매를 사용하였을 경우를 제외하고, 모든 실시예에서 동일하게 보여지는 현상들이다.

<81> 실시예 2, 실시예 2-1, 실시예 2-2, 실시예 2-3은 약물방출속도 조절제로서 폴리에틸렌글리콜을 폴리에스테르계 고분자에 혼합시켜 주었을 때, 폴리에틸렌글리콜의 함량증가에 따른 약물의 봉입율 및 봉입효율을 나타낸다. 표 1에서 알 수 있듯이, 수용성 및 결정성의 성질을 가지고 있는 폴리에틸렌글리콜의 첨가는 미립구의 제조과정 중에서도 미립구 내 외부 수상의 유입 및 유출을 자유롭게 하여, 결과적으로 약물의 봉입율 및 봉입 효율을 감소시키는 결과를 가져온다.

<82> 실시예 3, 실시예 3-1, 비교예 3은 수용성 고분자를 함유하는 내부 수상으로서 히아루론산나트륨을 키토산으로 변경하였을 경우 혼합용매 내의 아세톤 함량의 증가에 따른 약물의 봉입율 및 봉입효율을 나타낸다. 키토산을 사용하였을 경우에는 디클로로메탄 단독용매를 사용한 경우보다 디클로로메탄/아세톤의 혼합용매를 사용하여 키토산의 미세 응집 입자화 현상을 유도하였을 경우에 약물의 봉입량이 증대되는 효과를 보이고 있음을 알 수 있었다. 그러나 키토산의 경

우에는 히아루론산나트륨의 경우와는 달리, 혼합용매 내 아세톤의 함량과 약물의 봉입 효율과 비례관계는 없음을 확인할 수 있었다.

<83> 실험 예 2. 약물의 시험관내(*in vitro*) 방출 실험

<84> 제조된 고분자 미립구로부터 친수성 및 소수성 약물이 지속적으로 방출제어 되는지 확인하기 위하여, 다음의 시험관내(*in vitro*) 조건으로 약물방출 실험을 진행하였다. 즉, 제조된 고분자 미립구 100 mg을 정확하게 평량하여 멤브레인 투브(membrane tube) (분자량 컷-오프: 3,500)에 담아 양 끝을 밀봉시킨 후, pH 7.4인 인산염 완충용액 30 ml이 충전되어 있는 시험관에 넣어 뚜껑을 닫고 37°C에서 분당 60회 속도의 진탕항온수조(shaking water bath)에 두고 28일 이상 약물이 지속적으로 방출되도록 하였다. 방출된 약물들은 방출액을 15 ml씩 취하여 그 약물의 농도를 실험 예 1과 같이 HPLC 정량법으로 측정하였고, 시험관 내에 새로운 인산염 완충용액을 15 ml씩 보충하여 주었다.

<85> 도 2 및 도 3은 각각 폴리락트산 또는 폴리락트산-폴리글리콜산 공중합체 및 소수성 계면활성제를 포함하는 유기용매 중 디클로로메탄과 아세톤의 혼합비율에 따른 약물의 방출속도를 나타낸 것이다. 상기 결과로부터 혼합용매 내의 아세톤의 함량이 증가할수록 약물의 초기 방출이 현저하게 줄어들고 있음을 확인할 수 있었다. 아세톤을 첨가하여 고분자 미립구를 제조하는 경우 약물이 히아루론산나트륨 미세응집 입자와 폴리락트산 미립구에 이중으로 봉입되어 있으므로 약물의 초기 방출이 감소하는 경향을 보이는 것이라 해석된다. 즉, 혼합용매 내 아세톤의 함량이 증가할수록 내부수상인 히아루론산나트륨 수용액의 탈수량이 증가되어, 미세 응집 입자의 응집력이 상승되는 효과를 보이는데, 이러한 응집력이 약물방출에 있어서 1차적인 조절인자 역할을 할 수 있었다.

<86> 도 4는 고분자 미립구를 제조하는데 있어서 폴리락트산과 폴리글리콜산의 물분율이 50:50인 저분자량 공중합체에 폴리에틸렌글리콜을 물리적으로 혼합하였을 때의 양자의 혼합비율에 따른 약물의 방출속도를 나타낸 것이다. 상기의 결과로부터 폴리에틸렌글리콜의 함량이 증가할수록 약물의 방출속도가 커짐을 알 수 있었다. 앞서 언급한 바와 같이 폴리락트산과 폴리글리콜산의 물분율이 50:50인 저분자량 공중합체인 경우 그 물성이 고무상 (rubbery state)인 무정형 (amorphous) 고분자이기 때문에, 미립구에 봉입된 약물의 주된 방출 경로인 공극 (pore) 및 수로 (water channel)의 형성을 저해하므로, 약물의 전체적인 방출속도가 느려지는 효과를 나타낸다. 따라서, 폴리에틸렌글리콜을 약물방출 조절제로서 무정형 고분자와 물리적으로 혼합하는 경우 고무상의 무정형 고분자 미립구 내부에 결정영역이 형성되고, 공극과 수로형성을 원활하게 되어, 약물 방출속도를 원하는대로 조절할 수 있는 효과를 기대할 수 있다.

<87> 도 5는 수용성 고분자로서 키토산으로 사용하였을 경우 약물의 초기방출속도의 변화를 나타낸 결과이다. 앞서 언급한 바와 같이 키토산을 사용한 경우(실시예 3 및 실시예 3-1) 히아루론산나트륨의 경우와는 달리, 혼합용매 내 아세톤의 함량과 약물의 봉입 효율이 비례관계가 없음을 알 수 있었다. 다만, 디클로로메탄 단독용매를 사용한 경우(비교예 3)보다 디클로로메탄/아세톤의 혼합용매를 사용하여 키토산의 미세 응집 입자화 현상을 유도하였을 경우에 아세톤의 함량증가에 비례하여 약물의 초기방출 속도가 감소함을 확인할 수 있었다.

<88> 도 6은 점도를 가지는 내부 수상의 변경에 따른 약물의 초기방출속도의 변화를 나타낸 결과이다. 앞서 언급한 바와 같이 히아루론산나트륨(실시예 2) 또는 키토산(실시예 3)의 미세응집입자화 현상을 유도하였을 경우에 비하여 젤라틴(비교예 4) 자체의 젤화 (gelation)에 의한 약물의 초기 과다방출 억제효과가 거의 없음을 확인하였다. 즉, 젤라틴의 젤화에 의한 약물의 초기 과다방출의 억제효과는 단백질 또는 웨타이드계 약물 등의 특이적인 경우에만 해당되며, 소디

움알렌드로네이트 등의 저분자량약물의 방출조절에 큰 효과를 나타내지 못하고 있어 그 기술이 범용적이지 않은 것을 알 수 있었다.

<89> 제제예 1. 주사제

<90> 주사 용매는 주사용 증류수에 염화나트륨, 트윈 20을 포함하는 소듐 카르복시메틸셀룰로오즈 용액을 제조하여 사용하였다. 주사 부위의 통증을 감소시키기 위하여 염화나트륨을 사용하여 등장액으로 하고, 마이크로스피어를 효과적으로 혼탁시키고, 주사하는 동안 균일한 혼탁액으로 유지시켰다. 주사 부위에서 마이크로스피어 입자들이 떠물도록 하기 위하여, 200 내지 400cps 점도를 유지할 수 있도록 점증제로서 소듐 카르복시메틸셀룰로오즈를 사용하였다. 주사 용매는 제조 후 멸균하여 사용하였다

<91> 하기의 성분을 통상의 주사제의 제조방법으로 1.0 ml의 용량의 앰플에 충전하고, 멸균시켜 주사제를 제조하였다. 투여시, 무균 제조된 미립자 조성물 50.0mg 과 하기의 주사제 조성을 혼합하여 투여할 수 있다.

<92> 주사제 조성물

<93> 염화나트륨 9.0 mg

<94> 소듐 카르복시 메틸 셀룰로오즈 30.0mg

<95> 트윈 20 1.0 mg

<96> 주사용 증류수 to 1.0 ml

【발명의 효과】

97> 본 발명의 다중에멀젼 (W/O/W multiple emulsion) 방법에 따르면 1차 에멀젼 용액의 제조시 형성되는 수용성 고분자의 미세 응집 입자 내에 약물을 1차 봉입하고, 이를 폴리에스테르계 고분자에 2차 봉입함으로써 2차 에멀젼 과정에서 약물이 손실되는 것을 최소화하여 약물의 봉입량을 향상시킬 수 있다. 뿐만 아니라, 수용성 고분자 및 폴리에스테르계 고분자에 2중으로 봉입되어 있는 약물은 초기 과다방출이 최소한으로 억제될 수 있어 궁극적으로 지속적이고 장기적으로 약물이 방출되는 특징을 가진다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

(1) 생분해성 고분자 및 소수성 계면활성제를 포함하는 1차 유기용매 내에 2차 유기용매를 가하여 고분자 용액을 제조하는 단계; (2) 수용성 고분자 및 친수성 계면활성제를 포함하는 수용액에 약물을 용해, 분산시킨 후, 이를 (1)단계에서 제조된 고분자 용액에 가하여 1차 에멀젼 용액 (water-in-oil (W/O))을 제조하는 단계로서, 상기 단계에서 1차 에멀젼 용액의 내부수상이 탈수되어 수용성 고분자의 미세옹집입자가 형성되고, 상기 미세옹집입자내로 약물이 봉입되는 단계; 및 (3) 외부 연속상 (continuous phase)에 상기 1차 에멀젼 용액을 분산시켜 고분자 미립구를 고형화시키는 단계를 포함하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 생분해성 고분자가 폴리락트산 (Poly(lactic acid) (PLA)), 폴리글리콜산 (Poly(glycolic acid) (PGA)), 폴리락트산-폴리글리콜산의 공중합체 (Poly(lactic acid-co-glycolic acid) (PLGA)) 및 폴리카프로락톤 (Polycaprolactone (PCL))으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 성분임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 생분해성 고분자가 고분자 용액중의 유기용매에 대한 농도가 10내지 60%(w/v)가 되도록 첨가되는 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 (1) 단계에서 결정성 고분자가 더 첨가되는 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 5】

제4항에 있어서, 상기 결정성 고분자가 폴리에틸렌글리콜 또는 폴리(L-락트산)인 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 6】

제4항에 있어서, 상기 결정성 고분자와 생분해성 고분자의 질량비가 0.1:99.9 내지 20:80인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 7】

제1항에 있어서, 상기 소수성 계면활성제가 지방산계, 올레핀계, 알킬카본계, 실리콘계, 설페이트 에스테르계, 패티알코올 설페이트계, 설페이티드 패트 및 오일계, 설포닉산염계, 알리파틱 설포네이트계, 알킬아릴 설포네이트계, 리그민설포네이트계, 포스포릭산 에스테르계, 폴리옥시에틸렌계, 폴리글리세롤계, 폴리올계, 이미다졸린계, 알카놀아민계, 헤타민계, 설포메타민계, 포스파타이드계 및 소르비탄 지방산 에스테르계로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 성분임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 8】

제7항에 있어서, 상기 소수성 계면활성제가 소르비탄 트리올레이트인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 9】

제1항에 있어서, 상기 소수성 계면활성제가 고분자용액중의 유기용매에 대한 농도가 0.1 내지 30%(v/v)이 되도록 첨가되는 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 10】

제1항에 있어서, 상기 1차 유기용매가 디클로로메탄, 클로로포름, 사이클로헥산 및 에틸아세테이트 중에서 선택된 하나 이상의 성분임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 11】

제1항에 있어서, 상기 2차 유기용매가 아세톤, 아세토니트릴, 디메틸설폭사이드, 테트라하이드로퓨란 및 디옥산 중에서 선택된 하나 이상의 성분임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 12】

제1항에 있어서, 상기 1차 유기용매와 2차 유기용매의 부피비가 95:5 내지 50:50인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 13】

제1항에 있어서, 상기 수용성 고분자가 셀룰로오스 (cellulose), 헤미셀룰로오스 (hemicellulose), 펙틴 (pectin), 리그닌 (lignin), 저장 탄수화물인 전분, 키토산 (chitosan), 잔탄검 (xanthan gum), 알гин산 (alginic acid), 풀루란 (pullulan), 커드란 (curdlan), 덱스트란 (dextran), 리벤 (levan), 히아루론산 (hyaluronic acid), 글루칸 (glucan), 콜라겐 (collagen) 및 이들 각각의 염 중에서 선택된 하나 이상의 성분임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 14】

제13항에 있어서, 상기 수용성 고분자가 히아루론산 또는 그 염인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 15】

제1항에 있어서, 상기 수용성 고분자의 탈수전 수용액상에서의 점도가 300 내지 50,000 cp인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 16】

제1항에 있어서, 상기 친수성 계면활성제가 단백질 계면활성제, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 블록 공중합체 (polyoxyethylene-polyoxypropylene block copolymer) 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르계로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 성분임을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 17】

제16항에 있어서, 상기 친수성 계면활성제가 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 18】

제1항에 있어서, 상기 친수성 계면활성제가 물에 대한 농도가 0.1 내지 30%(w/w)가 되도록 첨가되는 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 19】

제1항에 있어서, 상기 약물이 비스포스포네이트 (bisphosphonate)계 약물인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 20】

제1항에 있어서, 상기 외부 연속상이 소디움 도데실 살파이트 (sodium dodecyl sulphate, SDS), 세틸트리메틸 암모니움 브로마이드 (cetyltrimethyl ammonium bromide, CTAB), 메틸 셀

102 70317

출력 일자: 2003/12/4

셀로오스 (methyl cellulose, MC), 젤라틴 (gelatin), 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트 (polyoxyethylene sorbitan monooleate) 또는 폴리비닐알코올 (polyvinyl alcohol, PVA) 수용액인 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 21】

제1항에 있어서, 상기 (3) 단계에 통상의 여과 및 세척과정이 더 추가되는 것을 특징으로 하는 고분자 미립구의 제조방법.

【청구항 22】

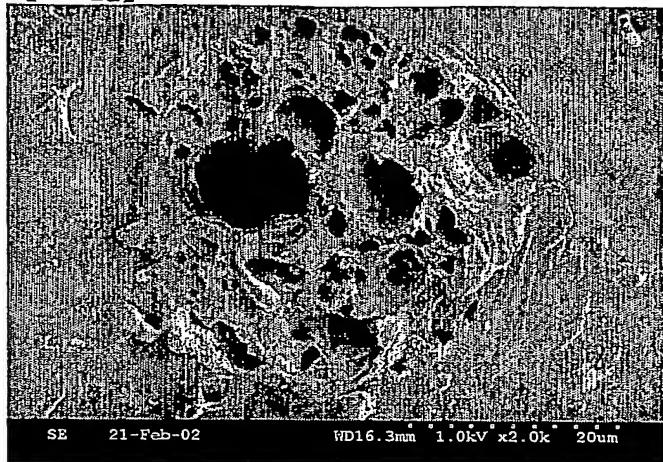
제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 따른 제조방법에 의해 얻어진 고분자 미립구.

102 70317

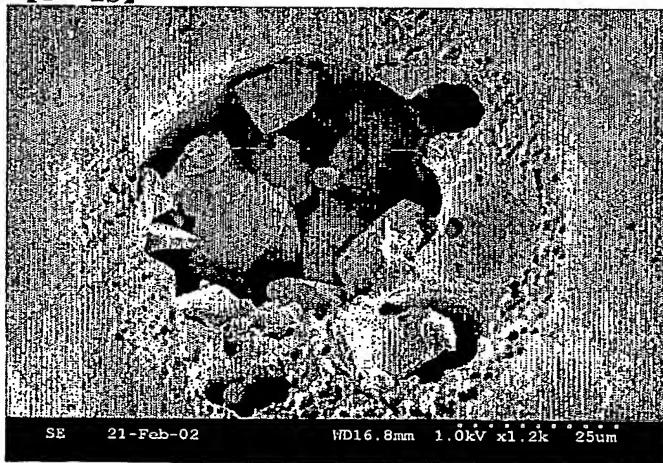
출력 일자: 2003/12/4

【도면】

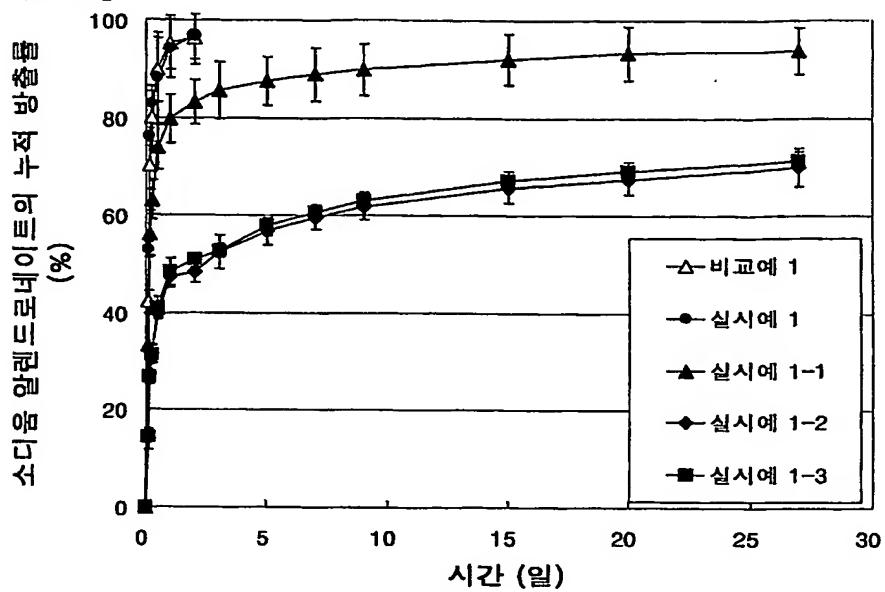
【도 1a】



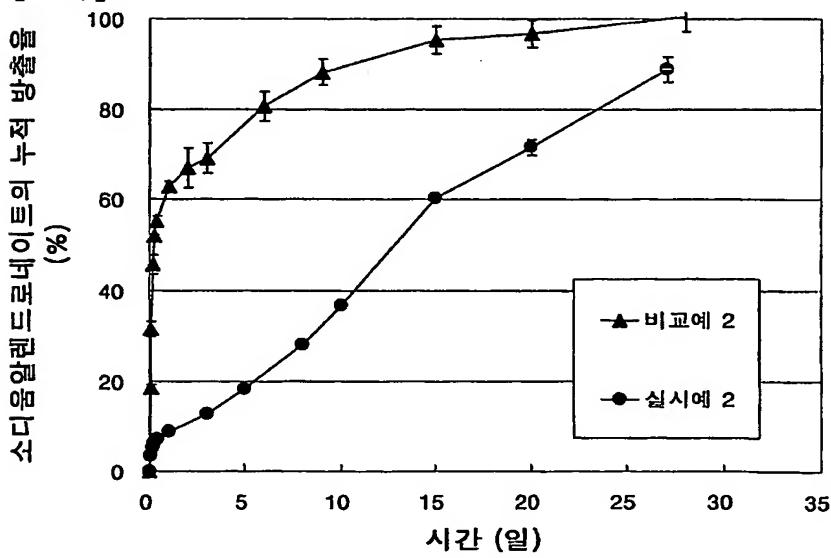
【도 1b】



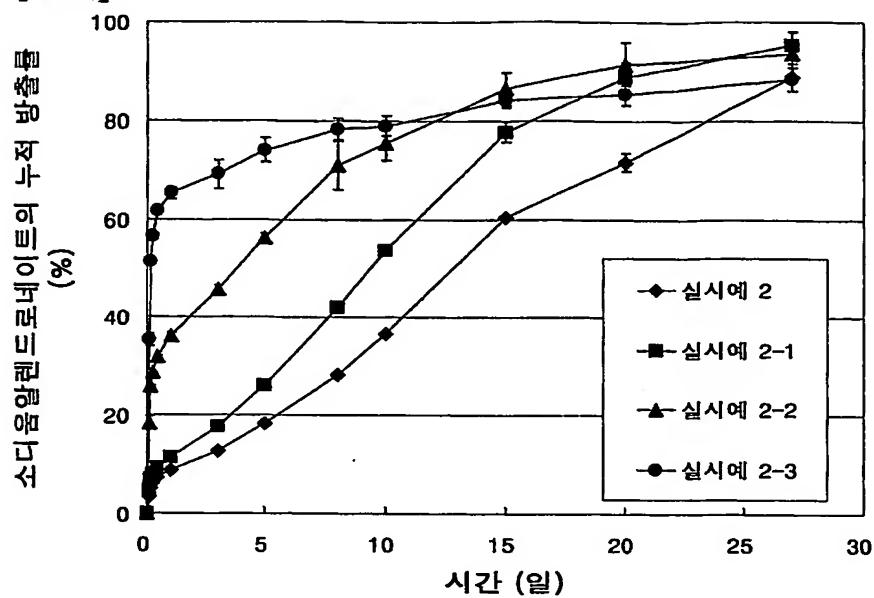
【도 2】



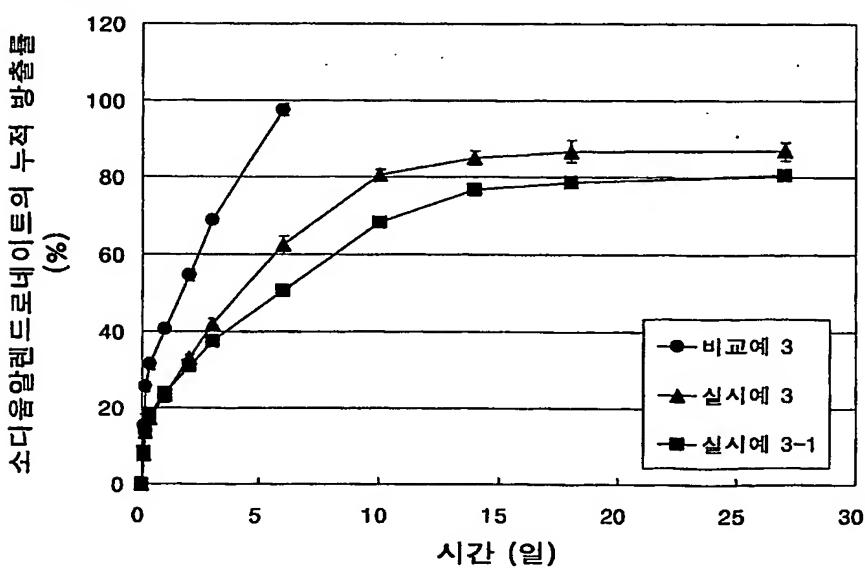
【도 3】



【도 4】



【도 5】



【도 6】

